

REC'D 15 APR 2003

WIPO

PCT

27 SEP 2004



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원 번호 : 10-2002-0017233
Application Number

출원 년 월 일 : 2002년 03월 29일
Date of Application MAR 29, 2002

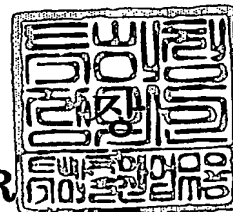
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

출원인 : 김성진
Applicant(s) KIM, SUNG-JIN



2003 년 03 월 26 일

특 허 청
COMMISSIONER



BEST AVAILABLE COPY

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0001
【제출일자】	2002.03.29
【국제특허분류】	A61K
【발명의 명칭】	맥문동 추출물을 포함하는 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물
【발명의 영문명칭】	Composition comprising an extract of liriopsis tuber for protecting brain cells and improving memory
【출원인】	
【성명】	김성진
【출원인코드】	4-1998-044990-1
【대리인】	
【성명】	서종완
【대리인코드】	9-1998-000283-8
【포괄위임등록번호】	1999-058149-1
【발명자】	
【성명】	김성진
【출원인코드】	4-1998-044990-1
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 서종완 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	21 면 21,000 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	14 항 557,000 원
【합계】	607,000 원
【감면사유】	개인 (70%감면)
【감면후 수수료】	182,100 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 맥문동 추출물을 포함하는 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물에 관한 것으로, 각종 스트레스, 음주, 흡연 등 환경적 요인으로 인하여 뇌손상을 받고 있는 현대인들의 뇌세포 보호효과를 유발하여 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료와 기억력 증진 효과를 유발하는 약제, 식품 및 음료에 이용할 수 있다.

【대표도】

도 1

【색인어】

맥문동, 뇌세포 보호, 기억증진, 치매

【명세서】**【발명의 명칭】**

맥문동 추출물을 포함하는 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물{Composition comprising an extract of liriopsis tuber for protecting brain cells and improving memory}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 맥문동 추출물(분획 T)의 AMPA에 의한 신경세포 탈분극 억제효과를 나타낸 도이다. 나타낸 값 (도1 B)은 평균 ±표준편차(n=5)이며, 대조군에 대한 유의성은 *: $P < 0.05$ 이다.

도 2는 맥문동 추출물(분획 A, C, CM, M)의 AMPA에 의한 신경세포 탈분극 억제효과를 나타낸 도이다. 나타낸 값은 평균 ±표준편차(n=5)이며, 대조군에 대한 유의성은 *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ 이다.

도 3은 맥문동 추출물(분획 T)의 기억력 증진 효과를 나타낸 도이다. 나타낸 값은 평균 ±표준편차(n=8)이며, 대조군에 대한 유의성은 *: $P < 0.05$ 이다.

도 4는 맥문동 추출물(분획 T, A, C, CM 및 M)의 기억력 증진효과를 나타낸 도이다. 나타낸 값은 평균 ±표준편차(n=7)이며, 대조군에 대한 유의성은 *: $P < 0.05$ 이다.

도 5는 맥문동 추출물(분획 T, A, C 및 M)의 아세틸콜린에스테라제 억제효과를 나타낸 도이다. 나타낸 값은 평균 ±표준편차(n=6)이며, 대조군에 대한 유의성은 ***: $P < 0.001$ 이다.

도 6는 맥문동 추출물(분획 T, A, C 및 M)의 ERK I 및 ERK II 활성 증진효과를 나타낸다.

도 7는 맥문동 추출물(분획 T, A, C 및 M)의 인슐린 수용체 활성 증진효과를 나타낸다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- ❧ 본 발명은 맥문동 추출물을 포함하는 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물에 관한 것이다.
- ❧ 뇌세포의 손상에 관여하는 중요한 인자중의 하나는 아미노산인 글루타메이트이다. 글루타메이트는 주로 4가지의 수용체 즉, NMDA (N-methyl-D-aspartate) 수용체, AMPA (L- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate)수용체, 카이네이트(Kainate) 수용체 및 1S,3R-ACPD 수용체에 결합하여 작용을 나타낸다[Craig CR, Stitzel RE, *Modern Pharmacology with Clinical Applications*, p293-302, 1997]. 뇌허혈과 같은 자극이 있을 경우, 뇌세포에 산소공급이 줄어들게 되고 결과적으로 혐기성 해당작용이 증가하며, 조직내의 에너지원인 ATP가 줄어들어 이온펌프의 작용이 감소하게 되고, 세포 외의 포타슘 이온의 양이 증가하여 신경세포막의 탈분극이 유도된다. 이렇게 되면 흥분성 신경전달물질이 분비되어 NMDA, AMPA, 카이네이트 수용체의 활성화로 인하여 뇌손상이 일어나게 된다.

<10> 흥분성 신경 전달물질에 의한 흥분성 독성(excito-toxicity)은 세포 스트레스를 유발하여, 알츠하이머병, 파킨슨병, 뇌졸중 및 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis) 등의 퇴행성 신경질환(neurodegenerative disorders)과 같은 병리학적 상태를 유발하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[Haloween, B., Reactive oxygen species and the central nervous system. *J. Neurochem.* 59, p1609-1623, 1992; Coyle, J. T. 및 Puttfarcken, P., Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 262, p689-695, 1993; Olanow, C. W., A radical hypothesis for neurodegeneration. *Trends Neurosci.* 16, p439-444, 1993]. 중추신경계의 퇴행성 신경 질환(neurodegenerative disorders)은 때로 기억과 인지기능의 저하를 수반한다. 특히, 치매는 현대와 같은 고령화 사회의 중대한 문제로서, 그 원인으로 유전, 노화, 뇌손상, 흡연 및 음주와 같은 환경적 요인 및 기타 복합인자들을 들 수 있다. 주로 해마(hippocampus)가 많이 손상되며, 이는 일반적으로 뇌의 아세틸콜린 함량의 감소와 밀접한 관련성이 있다. 현재, 뇌의 아세틸콜린 양을 증가시키기 위하여 아세틸콜린 에스테라제 억제제(acetylcholine esterase inhibitor)들이 알츠하이머성 치매 치료에 널리 사용되고 있는 실정이다. 이외에도, 이러한 뇌손상을 억제하기 위한 많은 연구가 이루어지고 있으며[Gagliardi RJ, Neuroprotection, excitotoxicity and NMDA antagonists, *Arq. Neuro-Psiquiatr.* p58, 2000], 예를 들어, NMDA 길항제, AMPA 길항제, GABA 효능제, 세포내 칼슘감소제, 산화질소(nitric oxide) 억제제, 유리 라디칼 제거제(free radical scavenger), 나트륨 채널 억제제, 글루타메이트 유리 억제제, 성장인자, 산성화(acidosis), 저체온법(hypothermia), 칼륨 채널 활성화제(potassium channel activators) 등의 개발이 시도되고 있다.

- <11> 그러나, NMDA 길항제로 도조사일핀(dozocylpin) (MK 801), 셀포텔(selfotel), 세레스타이트(cerestat), 텍스트로메틀판(dextrometorfan) 등이 개발되었으나, 이 약물들은 저용량으로 투여시, 지각인지의 변화, 불쾌감, 안구진탕증(nystagmus), 저혈압 등을 유발하며, 고용량으로 투여시 흥분, 집착(paranoia), 환각과 같은 정신적인 부작용을 나타낸다. 또한, AMPA 길항제로 NBQX가 개발되었으나, 심각한 신장독성의 발현으로 의약품으로서의 실용가능성이 아주 낮다.
- <12> 따라서, 독성이 없는 뇌보호제의 개발이 시급한 실정이다.
- <13> 최근의 연구에 의하면, AMPA 수용체의 활성화에 의한 신경세포 손상은 특히, 알츠하이머병과 관련된 전뇌 기저 콜린성 뉴런(basal forebrain cholinergic neurons: BFCNs)에 선택적으로 발생함으로써, AMPA 수용체는 알츠하이머병의 발생에 아주 중요한 역할을 할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 이는 즉, AMPA 길항제를 이용하여 알츠하이머병 치료제 개발을 시도할 수 있음을 제시하고 있다[Weiss, J. H. *et al.*, Basal forebrain cholinergic neurons are selectively vulnerable to AMPA/kainate receptor-mediated neurotoxicity. *Neuroscience* 60, p659-664].
- <14> 인슐린 수용체는 말초조직에서는 주로 당 대사에 관여하지만, 중추신경계에서는 당 대사보다는 기억력 조절과 같은 신경활성조절에 중요한 역할을 하고 있다. 사실 인슐린 수용체는 뇌조직의 다양한 부분에 널리 분포하고 있으며, 특히 해마(hippocampus)에 과량으로 존재하고 있다. 따라서, 해마는 인슐린의 중추신경계에서의 작용에 중요한 표적이 되고 있다. 최근 인슐린과 인슐린 수용체의 활성화가 뇌에서 기억력 형성에 중요한 역할을 한다는 보고가 많이 제시되고 있다[Park, C. P., Seeley, R. J., Craft, S, and Woods, S. C. (2000) Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive

avoidance task. *Physiol. Behav.* 68, 509-514; Zhao, W., Chen, H., Xu, H., Moore, E., Meiri, N., Quon, M. J., Alkon, D. L. (1999) Brain insulin receptors and spatial memory. *J. Biol. Chem.*, 274, 34893-34902].

<15> 또한, ERK(Extracellular signal-Regulated Kinase) I/II는 성장인자들에 의한 세포막 수용체의 활성화로부터 세포의 증식, 분화 및 유전자 발현의 변화를 연결시켜주는 중요한 신호전달 단백질이며, 또한 이 같은 세포신호전달기전에 중요한 역할을 하는 ERK(Extracellular signal Regulated Kinase) I/II의 활성화는 기억력 증진에 있어서 중요한 역할을 한다고 보고되었다(Siddhanti 등, *Endocrinology*, 136, 4834-4841 (1995); Hipkind and Bilbe, *Front Biosci.*, 1, D804-816 (1998); Thiels, E, Klann, E. Extracellular signal-regulated kinase, synaptic plasticity, and memory. *Rev. Neurosci.* 12, 327-345 (2001); Sweat J. D. The neuronal MAP kinase cascade: a biochemical signal integration system subserving synaptic plasticity and memory. *J. Neurochem.* 76, 1-10, (2001)).

<16> 따라서, 인슐린 수용체와 ERK I/II의 활성화를 유도하는 물질을 기억력 증진제 또는 치매치료제로 응용이 가능할 것으로 사료된다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<17> 본 발명의 발명자들은, 각종 스트레스, 음주, 흡연 등 환경적 요인으로 인하여 뇌 손상을 받고 있는 현대인들의 뇌세포 보호효과 및 기억력 증진효과를 유발하는 물질에 대한 오랜 연구 결과, 맥문동 추출물이 뇌세포 보호작용과 더불어 기억력 증진에 우수한 효과를 나타내는 것을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

<18> 따라서, 본 발명은 맥문동 추출물을 포함하는 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

【발명의 구성 및 작용】

<19> 본 발명은 맥문동 추출물을 포함하는 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물에 관한 것이다.

<20> 본 발명의 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물은, 조성물 총중량에 대하여 맥문동 추출물을 0.5~ 50 중량%로 포함한다.

<21> 맥문동(*Liriope Tuber*)은 백합과에 속하는 다년초로, 맥문동(활엽맥문동, *Liriope platyphylla* Wang et Tang), 소엽맥문동(연개초, *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawl., *O. stolonifer* Levl. et Vant., *Mondo japonicum* (L.f.) Farwell) 및 개맥문동(대엽맥문동, *Liriope spicata* (Thunb.) Lour.)이 있으며, 주로 뿌리의 팽대부가 약용으로 사용된다. 글루코스(glucose), 과당(fructose), 수크로스(sucrose), 오피오포고논 A, B(*opiopogonone* A, B), 메틸오피오포고논 A, B(*methylopiopogonone* A, B), 오피오포고논 A(*ophiopogonanone* A), 메틸오피오포고논 A, B(*methylopiopogonanone* A, B), 호모이소플라보노이드 I~V(*homoisoflavonoid* I~V), 보르네올 글리코사이드(*borneol glycoside*), β -시토스테롤(β -*sitosterol*), 스티그마스테롤(*stigmasterol*), β -시토스테롤 글리코사이드(β -*sitosterol glucoside*), 올리고사카라이드(*oligosaccharides*), 폴리사카라이드(*polysaccharides*), 3-O-알파-L-팜노피라노실(1-2)-베타-D-글루코피라노실오피오게닌(3-O- α -L-Rhamnopyranosyl(1-2)- β -D-glucopyranosylophiogenin), 5,7-디히드록시-6-포르밀-8-메틸-3-(3,4-메틸렌디옥시벤질)크로만-4-온(5,7-Dihydroxy-6-formyl-8-methyl-3-(3,4-methylenedioxybenzyl

- <22>)chroman-4-one), 6-알데히도-이소오피오포고나논 A(6-Aldehydo-isoophiopogonanone A), 6-알데히도-이소오피오포고논 A(6-Aldehydo-isoophiopogonone A), 6-알데히도-이소오피오포고논 B(6-Aldehydo-isoophiopogonone B), 6-알데히도-오피오포고논 A(6-Aldehydo-ophiopogonone A), 7-O-알파-L-아라비노퓨라노실(1-6)-베타-D-글루코피라노실보르네올(7-O-alpha-L-Arabinofuranosyl(1-6)-beta-D-glucopyranosylborneol), 7-O-베타-D-글루코피라노실-보르네올(7-O-beta-D-glucopyranosyl-borneol), 아제티딘-2-카르복실산
- <23> (Azetidine-2-carboxylic acid), 듀코스테롤(Daucosterol), 메틸오피오포고나논 A(Methylophiopogonanone A), 메틸오피오포고나논 B(Methylophiopogonanone B), 모노-O-아세틸오피오포고닌 D(Mono-O-acetylophiopogonin D), 오피오포곤 C(Ophiopogon C), 오피오포곤 아마이드 VI(Ophiopogon amide VI), 오피오포곤 호모이소플라보노이드 I (Ophiopogon homoisoflavonoid I), 오피오포곤 호모이소플라보노이드 II (Ophiopogon homoisoflavonoid II), 오피오포곤 호모이소플라보노이드 III(Ophiopogon homoisoflavonoid III), 오피오포곤 호모이소플라보노이드 IV(Ophiopogon homoisoflavonoid IV), 오피오포곤 호모이소플라보노이드 V (Ophiopogon homoisoflavonoid V), 오피오포고나논 A(Ophiopogonanone A), 오피오포고닌 A(Ophiopogonin A), 오피오포고닌 B'(Ophiopogonin B'), 오피오포고닌 B(Ophiopogonin B), 오피오포고닌 C'(Ophiopogonin C'), 오피오포고닌 D(Ophiopogonin D), 오피오포고닌 D'(Ophiopogonin D'), 툴리파닌(Tulipanin), 비세닌 2(Vicenin 2), 25(S)-루스코게닌-1-O-알파-L-람노푸라노실(1-2)-베타-D-푸코피라노사이드 (25(S)-Ruscogenin-1-O-alpha-L-rhamnopyranosyl(1-2)-beta-D-fucopyranoside), 25(S)-

루스코게닌-1-0-베타-D-크실로피라노실(1-3)-베타-D-푸코피라노사이드
 (25(S)-Ruscogenin-1-0-beta-D-xylopyranosyl(1-3)-beta-D-fucopyranoside), 아스테르
 사포닌 Hb 메틸 에스테르(Aster saponin Hb methyl ester), Lm-2, Lm-3, Ls-2, Ls-3,
 Ls-4, Ls-5, Ls-6, Ls-7, 루스코게닌-1-설페이트-3-0-알파-L-람노피라노사이드
 (Ruscogenin-1-sulfate-3-0-alpha-L-rhamnopyranoside), 1-설페이트-3-0-알파-L-람노피
 라노실-루스코게닌(1-Sulfate-3-0-alpha-L-rhamnopyranosyl-ruscogenin), 루스코게닌
 -3-0-알파-L-람노피라노사이드(Ruscogenin-3-0-alpha-L-rhamnopyranoside), 루스코게닌
 -3-0-베타-D-글루코피라노실(1-3)-알파-L-람노피라노사이드
 (Ruscogenin-3-0-beta-D-glucopyranosyl(1-3)-alpha-L-rhamnopyranoside) 등의 성분을
 함유하고 있으며, 동양의약에서 진해, 거담, 자양, 강장, 이뇨, 지갈, 혈당조절, 구강건
 조, 변비 등에 사용된다(정보첩, 신민교저, 도해향약대사전, 영림사 p177-178, 1998년
 및 신동의약보감 전통동양약물 데이터베이스(TradMed) 서울대학교 천연물과학연구소, 개
 정판, 1999년).

<24> 그러나, 지금까지 맥문동 추출물이 뇌세포 보호 및 기억력 증진 효과가 있다는 보
 고는 없었다.

<25> 본 발명의 맥문동 추출물은 하기와 같은 방법에 따라 제조될 수 있다.

<26> 제 1추출방법: 맥문동을 탄소수 1내지 4의 저급알코올 또는 이들 저급알코올과 물
 과의 혼합용매, 아세톤, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 에테르 및 에틸아세테이트로 이
 루어진 군으로부터 선택된 용매에서, 바람직하게는 메탄올 또는 메탄올과 물의 1:0.2~
 1.5 범위의 혼합용매에서 추출함으로써 얻을 수 있다. 이때 반응온도는 5 내지 80℃, 바

람직하게는 30 내지 55℃이 바람직하며, 반응시간은 15분 내지 48시간, 바람직하게는 30분 내지 12시간이 바람직하다.

- <27> 이때 얻어진 용매 가용분획은 테르페노이드(terpenoids) 및 페놀성(phenolic) 물질들이 다량 함유되어 있다.
- <28> 제 2추출방법: 상기 제 1추출방법로부터 얻어진 용매 가용분획을 탄소수 1내지 4의 저급알콜 및 물의 혼합용매에 녹인 후, 산으로 pH 2~4로 조절하고, 동량의 클로로포름으로 더 추출함으로써 클로로포름 가용분획을 얻을 수 있다.
- <29> 제3 추출방법: 상기 제 2 추출방법에 따라 얻어진 분획부 중 클로로포름 용매에 용해되지 않는 분획부를 수산화암모늄으로 pH 9~12로 조절하여 동량의 클로로포름:메탄올 혼합용매로 추출하고, 이중 클로로포름:메탄올 혼합용매에 용해되지 않는 분획부를 메탄올로 더 추출, 분획하여, 메탄올 가용분획 및 메탄올에 용해되지 않는 불분획을 얻을 수 있다.
- <30> 이때 클로로포름:메탄올 혼합용매의 혼합비는 1:0.1~1의 범위로 하는 것이 바람직하다. 상기 클로로포름에 용해되지 않은 분획부 중 클로로포름:메탄올 혼합용매로 추출시 용해된 분획부에는 대부분의 알칼로이드(alkaloids)들이 함유되어 있으며, 클로로포름:메탄올 혼합용매에 용해되지 않는 분획부 중 메탄올에 용해되는 분획부에는 4급 알칼로이드(quaternary alkaloids) 및 N-옥시드들이 함유되어 있다.
- <31> 또한, 본 발명의 맥문동 추출물은 통상의 분획방법으로 추가의 분획공정을 수행할 수도 있다(Harborne J.B. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd Ed. pp 6-7, 1998).

- <32> 본 발명의 맥문동 추출물을 포함하는 조성물은 통상의 방법에 따라 약제학적으로 허용가능한 담체 및 첨가제로 이루어진 군으로 부터 선택된 1종 이상의 성분을 더 포함할 수 있다.
- <33> 본 발명의 맥문동 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체는 일반적으로 부형제 또는 희석제로 칭하는 물질도 함께 포함하며, 예를 들면, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 이성화 당, 백당, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘, 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 파라옥시벤조에이트, 메틸 파라옥시벤조에이트, 파라옥시프로필벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유로 이루어진 군으로 부터 선택된 1종 이상의 성분을 사용할 수 있다.
- <34> 또한, 본 발명의 맥문동 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 첨가제로는, 천연 탄수화물, 향미제, 영양제, 비타민, 광물(전해질), 풍미제(합성 풍미제, 천연 풍미제 등), 착색제, 증진제(치즈, 초콜렛 등), 팩트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH조절제, 안정화제, 방부제, 산화방지제, 글리세린, 알콜, 탄산화제 및 과육으로 이루어진 군으로 부터 선택된 1종 이상의 성분을 사용할 수 있다.
- <35> 본 발명에 따른 맥문동 추출물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형; 외용제; 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

- <36> 맥문동 추출물의 사용량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 0.1 내지 500 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회 투여할 수 있다. 또한, 맥문동 추출물 및 그 분획물의 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있으며, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 본 발명의 맥문동 추출물 자체는 독성 및 부작용은 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있다.
- <37> 본 발명의 상기 맥문동 추출물은 또한, 식품학적으로 허용가능한 첨가제와 함께, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류와 같은 식품 또는 음료로 이용될 수 있다.
- <38> 이때, 본 발명에 따른 맥문동 추출물을 포함하는 식품에 있어서, 맥문동 추출물은 식품 총 중량에 대해 0.1 내지 15 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%로 포함될 수 있다.
- <39> 또한, 본 발명에 따른 맥문동 추출물을 포함하는 음료에 있어서, 맥문동 추출물은 음료 100ml를 기준으로 1~30g, 바람직하게는 3~10g의 비율로 포함될 수 있다.
- <40> 또한, 본 발명에 따른 식품 또는 음료에 포함되는 식품학적으로 허용가능한 첨가제로는, 천연 탄수화물, 향미제, 영양제, 비타민, 광물(전해질), 풍미제(합성 풍미제, 천연 풍미제 등), 착색제, 증진제(치즈, 초콜렛 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH조절제, 안정화제, 방부제, 산화 방지제, 글리

세린, 알콜, 탄산화제 및 과육로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 성분을 사용할 수 있다.

<41> 상기 첨가제는 식품 또는 음료 조성물 100 중량부 당 0.01~25 중량부의 범위로 첨가제를 포함되는 것이 바람직하다.

<42> 또한, 천연 탄수화물로는 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스 와 같은 디사카라이드; 텍스트린, 시클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 및 크실리톨, 소르비톨, 에리트리톨과 같은 당알콜을 사용할 수 있으며, 음료 조성물 100ml당 일반적으로 약 1~20g, 바람직하게는 약 5~12g로 사용되는 것이 바람직하다.

<43> 향미제로는 타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)과 같은 천연 향미제; 및 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 향미제를 사용할 수 있다

<44> 본 발명의 음료 조성물은 지시된 비율로, 필수 성분으로서 상기 맥문동 추출물을 포함하는 것 외에는 액체성분에 있어서 특별한 제한점은 없다.

<45> 본 발명은 다음의 실시예에 의거하여 더욱 상세히 설명되나, 본 발명이 이들에 의해 제한되지는 않는다.

<46> 실시예 1: 맥문동 추출물 제조

- <47> 맥문동 250g을 세절하여 속실텟 장치를 이용하여 70% 메탄올 (750 ml)로 3회 추출하였다. 추출물을 여과한 후, 회전진공농축기(rotary evaporator: EYELA N-N Series)를 이용하여 감압 농축하고, 동결건조하여 메탄올 조추출물을 얻었다(분획 T).
- <48> 동결건조한 메탄올 추출물 10g을 다른 유기용매로 분획하기 위하여, 200 ml의 메탄올: 물 (4:1)에 녹인 후 2M 황산으로 pH 3으로 조절하여 동량의 클로로포름으로 3회 연속 추출하고 이를 감압농축 및 동결건조하여 클로로포름 가용분획 0.12g을 얻었으며(분획 C), 물층은 수산화암모늄으로 pH 10으로 조절한 후, 동량의 클로로포름:메탄올 (3:1)로 2회 추출하였다. 클로로포름:메탄올(3:1)에 녹는 층을 감압농축 및 동결건조하여 클로로포름-메탄올 가용분획 0.09g을 얻었다(분획 CM), 물층은 동량의 메탄올로 3회 추출, 감압농축 및 동결건조를 수행하여 2.94g의 메탄올 가용분획 (분획 M)과 2.75g의 물 가용분획 (분획 A)을 각각 얻어, 이를 하기의 활성실험에 시료로 사용하였다.
- <49> 실험예 1: 그리스 갭 분석시험(Grease Gap assay)
- <50> 1) 실험방법
- <51> 백서 대뇌피질의 "웨지(Wedges)"를 제조하여 두 구획의 브레인 배스(two compartment brain bath)에 장치한 후, 시험을 시행하였다[Harrison NL, Simmonds, MA, Quantitative studies on some antagonists of N-methyl D-aspartate in slices of rat cerebral cortex. *Br. J. Pharmacol.* 84, p381-391, 1985년]. 뇌를 신속히 꺼내어 뇌조직 절편기를 이용하여 앞쪽 2~3 mm를 제거하고, 나머지 부위를 수직으로 잘라 500~600 μ m 두께의 관상 절편(coronal section)을 제조하여 신속히 산화된 크랩스 배지

(oxygenated Krebs medium)에 넣은 후, 정중선을 중심으로 2등분하여 대뇌피질과 뇌량(corpus callosum)을 포함하는 대뇌피질쪽이 1.5 mm이고 뇌량쪽은 1 mm인 웨지를 제조하였다. 상온에서 산화된 크랩스 배지에 2시간 방치 후, 웨지들을 두 구획의 브레인 배스(two compartment brain chamber)에 고압 실리콘 그리스(high vacuum silicone grease)를 바른 슬릿사이로 장치하였다. 양쪽 구획 모두 1분당 2 ml의 속도로 크랩스배지를 관류시켰다. 맥문동 추출물(분획 T, A, C, CM 및 M)을 대뇌피질쪽의 구획에 10 μ g/ml의 농도로 10분전에 미리 투여하기 시작하고, 흥분성 아미노산인 AMPA(α -아미노-3-히드록시-5-메틸-4-이속사졸 프로피오닉산) 40 μ M을 2분간 투여한 후, 두 구획사이의 d.c. 전위를 Ag/AgCl 전극을 통하여 측정하고, 이를 증폭기(amplifier)를 통하여 증폭한 후 맥랩 데이터 포착시스템(McLab Data Acquisition System)을 이용하여 측정하였다.

<52> 2) 실험결과

<53> AMPA에 의한 신경세포의 탈분극(depolarization) 유발은 신경세포의 손상에 의한 자극의 척도로 간주되어지고 있다. 실험결과, 도 1A 및 도 1B에서 나타난 바와 같이, AMPA 40 μ M을 두 구획의 브레인 배스(two compartment brain bath)에 투여한 경우 0.44 mV의 탈분극이 유도되는 반면, 맥문동 추출물(분획 T)(10 μ g/ml)을 전처리하고 AMPA를 투여한 경우, 탈분극 정도가 0.24 mV로 현저히 줄어들었음을 확인할 수 있었다. 특히, 맥문동 추출물의 다른 분획들(분획 A, C 및 M)을 전처리한 결과, AMPA에 의한 탈분극을 각각 66%, 48%, 63% 억제함이 밝혀졌다(도 2).

<54> 따라서, 맥문동 추출물 중의 여러가지 성분들에 의하여 신경보호작용이 유발됨을 알 수 있다.

<55> 실험에 2: NaNO₂ 기억 시험

<56> NaNO₂에 의한 뇌의 산소대사 결핍과 기억 및 학습과 관련있는 콜린성 신경전도는 서로 밀접한 관련이 있다고 알려져 있으며[Schindler등, Nootropic drugs: Animal models for studying effects on cognition. *Drug Develop Res* 4: p567-576, 1984], 특히 NaNO₂에 의한 뇌의 산화적 대사(oxidative metabolism) 장애와 콜린성 신경억제로 인한 기억장애는 서로 밀접한 관련이 있다. 따라서 약물처리 후 NaNO₂에 의한 사망유발 시간의 지연이 나타난다면 그것은 그 약물의 기억력 증가효과를 나타내는 척도의 하나로 간주될 수 있다.

<57> 1) 실험방법

<58> 웅성생쥐(20 g)에 맥문동 추출물(분획 T)을 10 mg/kg, P.O.로 투여하고, 60분 후에 NaNO₂를 250 mg/kg, s.c.로 주사하고 호흡이 정지할 때까지의 시간을 측정하여, 호흡이 지속되는 시간을 대조군에 비교하여 기억향상효과를 평가하였다.

<59> 2) 실험결과

<60> 실험결과 도 3에서 나타난 바와 같이, NaNO₂에 의한 뇌대사 장애로 인한 사망유도 시간에 비하여, 맥문동 추출물(분획 T) (10 mg/kg, P.O.)을 전처리한 경우 45%의 증가를 유발하므로써 맥문동 추출물에 의한 기억력 증가효과를 나타내었다.

<61> 실험에 3: 수동 회피 기억 시험 (Passive Avoidance Test)

<62> 1) 실험방법

<63> 웅성생쥐(20 g)에 맥문동 추출물(분획 T, 분획 A, 분획 C, 분획 CM, 분획 M)을 하루에 10 mg/kg, P.O.로 3일간 투여하고, 제미니 회피 시스템(Gemini Avoidance System,

San Diego Instruments, USA) 을 이용하여 수동회피 기억시험을 시행하였다. 실험은 쿠마르 등의 방법을 기본으로 하여 약간의 수정을 가하여 다음과 같이 시행하였다[Kumar, V., Singh, P.N., Muruganandan, A. V., Bhattacharya. Effect of Indian Hypericum perforatum Linn on animal models of cognitive dysfunction. *J. Ethnopharmacology* 72, p119-128, 2000].

<64> 첫째 날의 트레이닝 실험에는, 마우스를 밝은 박스에 넣고 300초 동안 순화(acclimation)시킨 후, 자동으로 문이 열리게 하여 어두운 박스로 이동하도록 한다. 어두운 박스로 이동하면 0.3 mA의 전기 자극을 1초간 가하였다. 24시간 후의 테스트 실험에는, 마우스를 밝은 박스에 300초 동안 순화시킨 후 문을 열어주어 어두운 박스로 이동하게 하였다. 이때 어두운 박스로 이동할 때까지 걸리는 시간을 측정하였다. 둘째 날에는 전기자극을 주지 않았다. 만약, 마우스가 500초 동안 어두운 박스로 이동하지 않으면 최대 점수인 500초를 주었다.

<65> 2) 실험결과

<66> 첫째날의 트레이닝 실험에서는 실험결과 도 4A에서 나타난 바와 같이, 각 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 둘째날의 테스트 실험에서는 실험결과 도 4B에서 나타난 바와 같이, 스코폴라민(scopolamine) 처리로 치매가 유발된 마우스는 대조군에 비하여 83%의 기억능력이 떨어졌다. 하지만 맥문동 분획 T, A, C 및 M을 3일간 투여한 마우스의 경우, 스코폴라민에 의한 기억 장애를 각각 33%, 32%, 45%, 158% 회복시키는 우수한 기억회복력 효과를 나타내었다.

<67> 실험예 4: 엑스 비보에서의 콜린에스테라제 시험(*Ex vivo* Cholinesterase assay)

<68> 1) 실험방법

<69> 용성 SD 랫드에 맥문동 추출물 분획을 경구 투여(100mg/kg)하고 60분후에 뇌를 꺼내어 해마를 분리하고, 분리된 해마를 분쇄한 후 콜린에스테라제(cholinesterase) 활성을 엘만(Ellman) 등의 방법으로 측정하였다 [Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88-95.1961]. 3 ml의 완충액 I (buffer I; 100 mM phosphate, pH 8.0), 0.2 ml의 75 mM 아세틸티오펜올린 요오드화물 (acetylthiocholine iodide) 및 0.1ml 의 완충 엘만 시약(buffered Ellmans reagent; DTNB 10 mM, NaHCO₃ 15 mM)을 혼합하고 10분간 25℃에서 반응시켰다. 이 반응물에 20 μ l 의 해마 분해질(lysate)을 넣고 30초 간격으로 흡광도를 측정하였다. 퍼센트 억제율을 대조군과 비교하여 계산하였다.

<70> 2) 실험결과

<71> 맥문동 분획 T, A, C 및 M을 투여했을 때, 대조군에 비하여 해마 콜린에스테라제 활성도(hippocampal cholinesterase activity)를 각각 56%, 64%, 56% 및 44% 억제하였다 (도 5).

<72> 실험예 5: ERK I/II 활성화에 미치는 효과

<73> 1) 실험방법

<74> 맥문동 추출물이 ERK(Extracellular signal-Regulated Kinase) I/II의 활성화에 미치는 효과를 다음과 같이 조사하였다.

- <75> 맥문동 추출물의 각 분획을 랫트에 10 mg/kg의 농도로 경구 투여하고, 1시간 후에 해마를 분리하고 해마 중량의 4배의 완충액 (50mM Tris HCl, 1mM EDTA, 1 mM EGTA, 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0.5 mM PMSF, 1 mM Na₃VO₄, 1 μ g/ml leupeptin, 1 μ g/ml aprotinin)에 넣고 포터-엘베헴 호모게나이제(Potter-Elvehjem homogenizer)를 이용하여 균질화한 후, 하기와 같은 방법으로 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴아마이드 전기영동(SDS-PAGE) 및 웨스턴 블롯팅에 의해 ERK I/II 활성을 측정하였다.
- <76> 단백질 정량을 하여 각 웰에 동량의 단백질을 포함한 시료 30 μ l가 들어가도록 조절하였다. 5×램리 시료 완충액(Laemmli's sample buffer)를 가하여 물에서 5분간 끓인 후 로딩하여 100 V로 전기영동하였다. SDS-PAGE는 분리 젤 7.5 %를 사용하였다.
- SDS-PAGE 시행후, 미니 트랜스-블롯 일렉트로포레틱 트랜스퍼 셀(Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell(Bio-Rad))을 이용하여 100 V에서 1시간 동안 니트로셀룰로스 막으로 단백질을 이동, 부착시켰다. 0.1 % 트윈 20을 포함하는 PBS 용액(PBS-T)에 5 % 탈지우유를 녹여 만든 블로킹 용액에, 니트로셀룰로스 막을 담가 4°C 냉장고에서 하룻밤을 보관하였다. 니트로셀룰로스 막에 1차 항체(anti ERK I/II Ab와 anti-phospho ERK I/II Ab; New England Biolab사제, USA)를 PBS-T에 1:1000으로 희석한 용액을 가하여 1시간 동안 반응시켰다. 니트로셀룰로스 막을 PBS-T로 15분간 1회, 5분간 3회 세척한 후, 2차 항체로서 서양고추냉이 퍼옥시다제(horseradish peroxidase)에 결합된 염소 항-토끼 IgG(Pierce)를 PBS-T에 1:1000으로 희석한 용액을 가하여 40분간 반응시켰다. ERK 2(42 kDa) 단백질의 밴드를 증진된 화학발광(enhanced chemiluminescence (ECL), Pierce) 방법을 써서 확인하였다(Harlow E. and Lane D., *Antibodies: A laboratory manual.*, 726, 1988).

<77> 2) 실험결과

<78> 실험결과, 인산화되어 활성화된 포스포-ERK I/II(phospho-ERK I/II)는 맥문동 추출물(분획 T, A, C 및 M)의 투여 후 대조군에 비하여 현저히 증가하였다(도 6A). 한편 ERK I/II의 단백질 함량은 대조군과 투여군 모두에서 유사하게 나타났다(도 6B). 이 결과로부터 맥문동 추출물 분획 T, A, C 및 M이 랫트 해마의 ERK I/II를 활성화시켜 기억력 증진 작용을 일으킬 수 있음을 알 수 있다.

<79> 실험예 6: 인슐린 수용체 활성화에 미치는 효과

<80> 인슐린 수용체의 활성화는 기억력 형성에 중요한 역할을 한다. 따라서, 인슐린 수용체의 활성화가 인슐린 수용체 β 서브유닛의 타이로신 인산화를 통하여 유도되므로, 맥문동 추출물이 인슐린 수용체의 활성화에 미치는 효과를 다음과 같이 시험하였다. .

<81> 1) 실험방법

<82> 맥문동 추출물의 각 분획을 랫트에 10 mg/kg의 농도로 경구 투여하고 1시간 후에 해마를 분리하고 해마 중량의 4배의 완충액 (50mM Tris HCl, 1mM EDTA, 1 mM EGTA, 150 mM NaCl, 1% triton X-100, 0.5 mM PMSF, 1 mM Na_3VO_4 , 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ leupeptin, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ aprotinin)에 넣은 후, 포터-엘베헴 호모게나이저(Potter-Elvehjem homogenizer)를 이용하여 균질화하였다. 이후 하기와 같이 면역침강반응 및 소듐 도데실 설페이트 폴리악릴아마이드 전기영동(SDS-PAGE), 및 웨스턴 블롯팅에 의해 인슐린 수용체의 활성을 측정하였다.

<83> 균질화한 해마 분해질(lysate) 100 μl 를 완충액 (0.5M NaCl, 1% NP-40, 10% deoxycholate, 0.1% SDS) 100 μl 에 혼합하고 1시간 동안 4 $^{\circ}\text{C}$ 에 반응시킨 후, 15분간

17,800 x g의 속도로 원심분리하고, 상등액에 인슐린 수용체 항체(Transduction laboratories) 5 μ l를 넣었다. 그 후 1시간 동안 로터를 이용하여 회전하면서 반응시키고, 단백질 A 세파로스(protein A Sepharose) 20 μ l를 가한 후 4°C에서 1시간 동안 로터를 이용하여 반응시켰다. 이 반응물을 미세원침관(microfuge)을 이용하여 원심 분리 후, 그 침전물을 세척 완충액(wash buffer) A, B, C로 순서대로 세척하였다. 세척한 침전물에 5× 램리 시료 완충액(Laemmli's sample buffer)를 가하여 물에서 5분간 끓인 후, 로딩하여 100 V로 전기영동하였다. SDS-PAGE는 분리 젤 7.5 %를 사용하였다. 전기영동 후 웨스턴 블롯 반응을 실험에 3에서와 동일하게 시행하였으며 항체는 포스포타이로신 Ab(phosphotyrosine Ab; Transduction laboratories)를 이용하여 인슐린 수용체 β 서브유닛(Insulin receptor β subunit)의 타이로신 인산화를 관찰하였다.

<84> 2) 실험결과

<85> 도 7에 나타난 바와 같이, 맥문동 추출물 분획 T는 강력하게 인슐린 수용체를 활성화시켰으며, 분획 C도 대조군에 비하여 현저히 인슐린 수용체를 활성화하는 작용을 나타내었다. 따라서, 인슐린 수용체의 활성화가 실험에 3에서 나타난 분획 T와 분획C에 의한 기억력 증진효과에 지대한 역할을 하고 있음이 알 수 있다.

<86> 제제에 1. 정제

<87> 하기의 구성에 따라, 통상의 정제 제조방법으로 각각 제제화하였다.

<88> 1-1. 정제 조성물

<89> 맥문동의 메탄올 추출물 500.0 mg

- <90> 유당 500.0 mg
- <91> 탈크 5.0 mg
- <92> 마그네슘 스테아레이트 1.0 mg
- <93> 1-2. 정제 조성물
- <94> 맥문동의 메탄올 추출물의 클로로포름 분획 50.0 mg
- <95> 유당 50.0 mg
- <96> 탈크 0.5 mg
- <97> 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg
- <98> 1-3. 정제 조성물
- <99> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 분획 50.0 mg
- <100> 유당 50.0 mg
- <101> 탈크 0.5 mg
- <102> 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg
- <103> 1-4. 정제 조성물
- <104> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 비가용 분획 50.0 mg
- <105> 유당 50.0 mg
- <106> 탈크 0.5 mg
- <107> 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg
- <108> 제제예 2. 캡슐제

<109> 하기의 조성에 따라, 다음과 같은 방법으로 캡슐제를 제조하였다. 맥문동 추출물을 체질하여 부형제와 혼합한 후, 젤라틴 캡슐중에 충전하여 캡슐을 제조하였다.

<110> 2-1. 캡슐제 조성물

<111> 맥문동의 메탄올 추출물 500.0 mg

<112> 전분 1500 10.0 mg

<113> 스테아르산마그네슘 BP 100.0 mg

<114> 2-2. 캡슐제 조성물

<115> 맥문동의 메탄올 추출물의 클로로포름 분획 50.0 mg

<116> 전분 1500 1.0 mg

<117> 스테아르산마그네슘 BP 10.0 mg

<118> 2-3. 캡슐제 조성물

<119> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 분획 50.0 mg

<120> 전분 1500 1.0 mg

<121> 스테아르산마그네슘 BP 10.0 mg

<122> 2-4. 캡슐제 조성물

<123> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 비가용 분획 50.0 mg

<124> 전분 1500 1.0 mg

<125> 스테아르산마그네슘 BP 10.0 mg

<126> 제제예 3. 시럽제

<127> 하기의 조성에 따라, 다음과 같은 방법으로 시럽제를 제조하였다. 먼저 정제수에 백당을 용해시키고 파라옥시벤조에이트, 파라옥시프로필벤조에이트 및 맥문동 추출물을 가하여 60℃에서 용해시킨 후 냉각하고, 정제수를 가하여 150 ml로 만들었다.

<128> 3-1. 시럽제 조성물

<129> 맥문동의 메탄올 추출물 5.0 g

<130> 백당 95.1 g

<131> 파라옥시벤조에이트 80.0 mg

<132> 파라옥시프로필벤조에이트 16.0 mg

<133> 정제수 to 150 ml

<134> 3-2. 시럽제 조성물

<135> 맥문동의 메탄올 추출물의 클로로포름 분획 50.0 mg

<136> 백당 95.1 g

<137> 파라옥시벤조에이트 80.0 mg

<138> 파라옥시프로필벤조에이트 16.0 mg

<139> 정제수 to 150 ml

<140> 3-3. 시럽제 조성물

<141> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 분획 50.0 mg

<142> 백당 95.1 g

<143> 파라옥시벤조에이트 80.0 mg

<144> 파라옥시프로필벤조에이트 16.0 mg

<145> 정제수 to 150 ml

<146> 3-4. 시럽제 조성물

<147> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 비가용 분획 50.0 mg

<148> 백당 95.1 g

<149> 파라옥시벤조에이트 80.0 mg

<150> 파라옥시프로필벤조에이트 16.0 mg

<151> 정제수 to 150 ml

<152> 제제예 4. 액제

<153> 하기의 성분을 통상의 액제 제제방법으로 제제화하고, 갈색병에 충전하여 액제를 제조하였다.

<154> 4-1. 액제 조성물

<155> 맥문동의 메탄올 추출물 500.0 mg

<156> 이성화당 20.0 g

<157> 산화방지제 5.0 mg

<158> 메틸 파라옥시벤조에이트 2.0 mg

<159> 정제수 to 100.0 ml

<160> 4-2. 액제 조성물

<161> 맥문동의 메탄올 추출물의 클로로포름 분획 500.0 mg

<162> 이성화당 20.0 g

<163> 산화방지제 5.0 mg

<164> 메틸 파라옥시벤조에이트 2.0 mg

<165> 정제수 to 100.0 ml

<166> 4-3. 액제 조성물

<167> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 분획 500.0 mg

<168> 이성화당 20.0 g

<169> 산화방지제 5.0 mg

<170> 메틸 파라옥시벤조에이트 2.0 mg

<171> 정제수 to 100.0 ml

<172> 4-4. 액제 조성물

<173> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 비가용 분획 500.0 mg

<174> 이성화당 20.0 g

<175> 산화방지제 5.0 mg

<176> 메틸 파라옥시벤조에이트 2.0 mg

<177> 정제수 to 100.0 ml

<178> 제제예 5. 산제

<179> 하기의 성분을 통상의 산제의 제조방법으로 혼합하고, 봉지에 넣어 밀봉한 후 산제를 제조하였다.

<180> 5-1. 산제 조성물

<181> 맥문동의 메탄올 추출물 50.0 mg

<182> 유당 100.0 mg

<183> 탈크 5.0 mg

<184> 5-2. 산제 조성물

<185> 맥문동의 메탄올 추출물의 클로로포름 분획 50.0 mg

<186> 유당 100.0 mg

<187> 탈크 5.0 mg

<188> 5-3. 산제 조성물

<189> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 분획 50.0 mg

<190> 유당 100.0 mg

<191> 탈크 5.0 mg

<192> 5-4. 산제 조성물

<193> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 비가용 분획 50.0 mg

<194> 유당 100.0 mg

<195> 탈크 5.0 mg

<196> 제제에 6. 주사제

<197> 하기의 성분을 통상의 주사제의 제조방법으로 2.0 ml의 용량의 앰플에 충전하고,
 멸균시켜 주사제를 제조하였다.

<198> 6-1. 주사제 조성물

<199> 맥문동의 메탄올 추출물 50.0 mg

<200> 산화방지제 1.0 mg

<201> 트윈 80 1.0 mg

<202> 주사용 증류수 to 2.0 ml

<203> 6-2. 주사제 조성물

<204> 맥문동의 메탄올 추출물의 클로로포름 분획 50.0 mg

<205> 산화방지제 1.0 mg

<206> 트윈 80 1.0 mg

<207> 주사용 증류수 to 2.0 ml

<208> 6-3. 주사제 조성물

<209> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 분획 50.0 mg

<210> 산화방지제 1.0 mg

<211> 트윈 80 1.0 mg

<212> 주사용 증류수 to 2.0 ml

<213> 6-4. 주사제 조성물

<214> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 비가용 분획 50.0 mg

<215> 산화방지제 1.0 mg

<216> 트윈 80 1.0 mg

<217> 주사용 증류수 to 2.0 ml

<218> 제제예 7. 선택의 제조

<219> 현미, 보리, 찹쌀 및 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후

분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 만들었다. 검정콩, 검정깨 및 들깨도 공지의 방법으로

짜서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 만들었다. 상기에서 제

조한 곡물류, 종실류 및 건조 맥문동 추출물을 다음의 비율로 배합하여 과립을 만들었다.

<220> 7-1. 선식 제조예

<221> 곡물류 : 현미 30중량%, 율무 15중량%, 보리 20중량%, 찹쌀 9%

<222> 종실류 : 들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%,

<223> 맥문동 메탄올 추출물 건조분말 : 3 중량%, 영지 0.5중량%, 지황 0.5중량%

<224> 7-2. 선식 제조예

<225> 곡물류 : 현미 30중량%, 율무 15중량%, 보리 20중량%, 찹쌀 9%

<226> 종실류 : 들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%,

<227> 맥문동의 메탄올 추출물의 클로로포름 분획물 건조분말 : 3 중량%, 영지 0.5중량%,
지황 0.5중량%

<228> 7-3. 선식 제조예

<229> 곡물류 : 현미 30중량%, 율무 15중량%, 보리 20중량%, 찹쌀 9%

<230> 종실류 : 들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%,

<231> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 분획물 건조분말 : 3 중량%, 영지 0.5중량%, 지
황 0.5중량%

<232> 7-4. 선식 제조예

<233> 곡물류 : 현미 30중량%, 율무 15중량%, 보리 20중량%, 찹쌀 9%

<234> 종실류 : 들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%,

<235> 맥문동의 메탄올 추출물의 메탄올 비가용 분획물 건조분말 : 3 중량%, 영지 0.5중량%, 지황 0.5중량%

【발명의 효과】

<236> 맥문동 추출물을 포함하는 조성물은, 맥문동 추출물의 뇌세포 보호기능으로 인해 뇌세포 손상으로 발생하는 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료 효과 뿐 아니라 기억력 향상 유발 효과를 나타내며, 각종 환경적 스트레스로 인한 뇌 손상의 위험을 안고 있는 현대인의 뇌세포 보호 기능 및 치매환자를 포함하는 기억력이 저하된 사람에게 유용하게 사용될 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

맥문동 추출물을 포함하는 뇌세포 보호 및 기억력 증진용 조성물.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 맥문동 추출물이 조성물 총 중량에 대하여 0.5~50 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 3】

제 1항에 있어서, 맥문동 추출물이 맥문동을 탄소수 1내지 4의 저급 알코올 또는 이들 저급알코올과 물과의 혼합용매, 아세톤, 클로로포름, 메틸렌클로라이드, 에테르 및 에틸아세테이트로 이루어진 군으로부터 선택된 용매에서 추출하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 4】

제 1항에 있어서, 맥문동 추출물이 제 3항에 따른 방법으로 얻어진 용매 가용분획을 탄소수 1내지 4의 저급 알코올과 물과의 혼합용매에 녹이고 산으로 pH 2~4로 조절한 후, 동량의 클로로포름으로 더 추출, 분획하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 5】

제 1항에 있어서, 맥문동 추출물이 제 3항에 따른 방법으로 얻어진 용매 가용분획을 탄소수 1내지 4의 저급 알코올과 물과의 혼합용매에 녹이고 산으로 pH 2~4로 조절하여 동량의 클로로포름으로 추출한 후, 클로로포름에 용해되지 않는 분획부를 수산화암모늄으로 pH 9~12로 조절하여 동량의 클로로포름:메탄올 혼합용매로 추출하고, 이중 클로

로포름:메탄올 혼합용매에 용해되지 않는 분획부를 메탄올로 더 추출, 분획하여 메탄올에 용해되는 분획으로부터 얻어지는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 6】

제 1항에 있어서, 맥문동 추출물이 제 3항에 따른 방법으로 얻어진 용매 가용분획을 탄소수 1내지 4의 저급 알코올과 물과의 혼합용매에 녹이고 산으로 pH 2~4로 조절하여 동량의 클로로포름으로 추출한 후, 클로로포름에 용해되지 않는 분획부를 수산화암모늄으로 pH 9~12로 조절하여 동량의 클로로포름:메탄올 혼합용매로 추출하고, 이중 클로로포름:메탄올 혼합용매에 용해되지 않는 분획부를 메탄올로 더 추출, 분획하여, 메탄올에 용해되지 않는 분획으로부터 얻어지는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 7】

제 1항에 있어서, 상기 조성물이 약제학적으로 허용가능한 담체 및 첨가제로 이루어진 군으로 부터 선택된 1종 이상의 성분을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 8】

제 1항에 있어서, 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화되는 것을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 9】

제 1항에 따른 맥문동 추출물 및 식품학적으로 허용가능한 첨가제를 포함하는 식품.

【청구항 10】

제 9항에 있어서, 맥문동 추출물이 식품 총 중량에 대하여 0.1~15 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 식품.

【청구항 11】

제 9항에 있어서, 상기 식품학적으로 허용가능한 첨가제가 천연 탄수화물, 향미제, 영양제, 비타민, 광물, 풍미제, 착색제, 증진제, 팩트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH조절제, 안정화제, 방부제, 산화방지제, 글리세린, 알콜, 탄산화제 및 과육로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 성분 임을 특징으로 하는 식품.

【청구항 12】

제 1항에 따른 맥문동 추출물 및 식품학적으로 허용가능한 첨가제를 포함하는 음료.

【청구항 13】

제 12항에 있어서, 맥문동 추출물이 음료 100ml에 대해 1~30g으로 포함되는 것을 특징으로 하는 음료.

【청구항 14】

제 12항에 있어서, 상기 식품학적으로 허용가능한 첨가제가 천연탄수화물, 향미제, 영양제, 비타민, 광물, 풍미제, 착색제, 증진제, 팩트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH조절제, 안정화제, 방부제, 산화방지제, 글리세

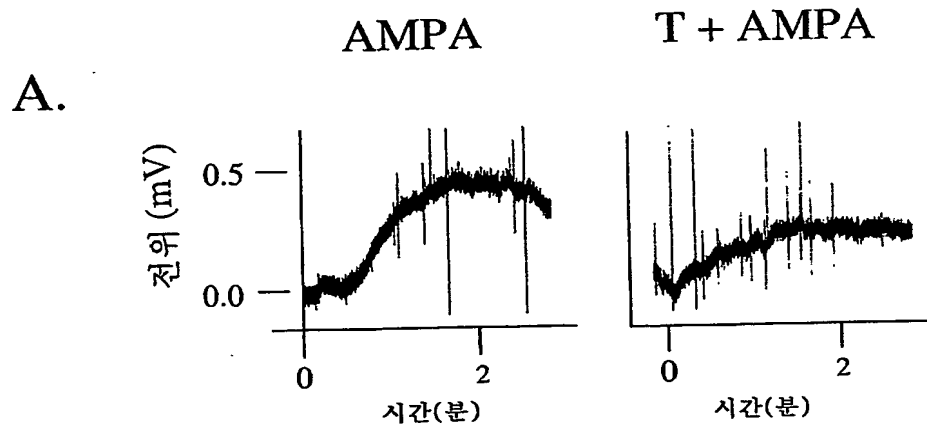
1020020017233

출력 일자: 2003/4/3

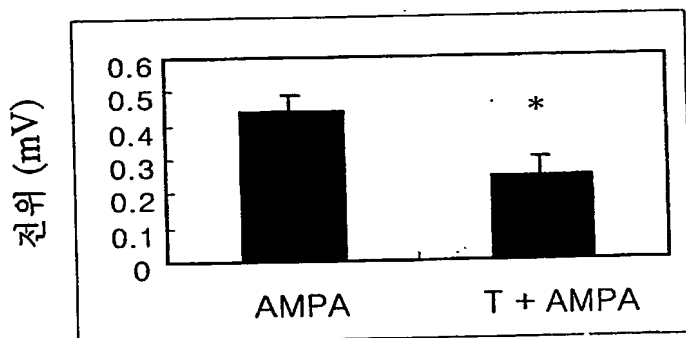
린, 알콜, 탄산화제 및 과육로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 성분 임을 특징
으로 하는 음료.

【도면】

【도 1】

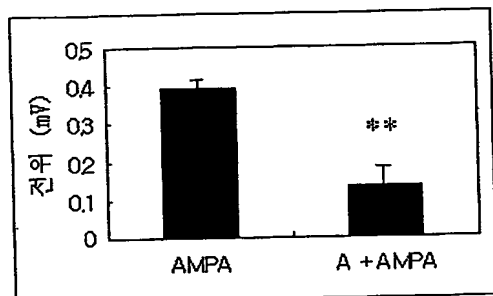


B.

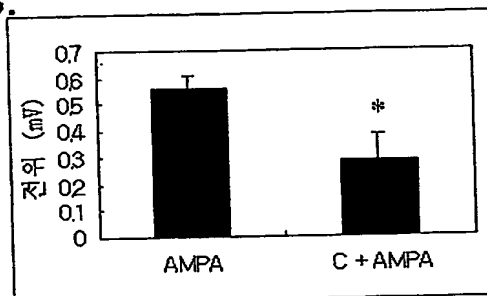


【도 2】

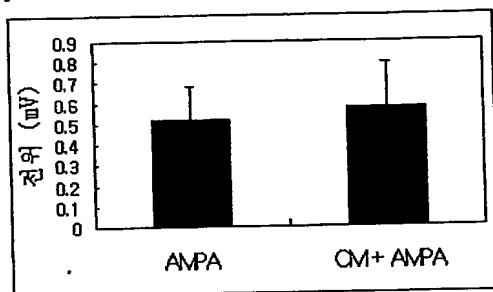
A.



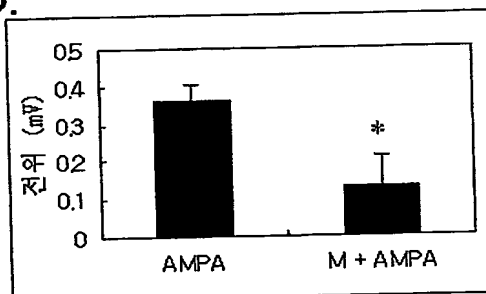
B.



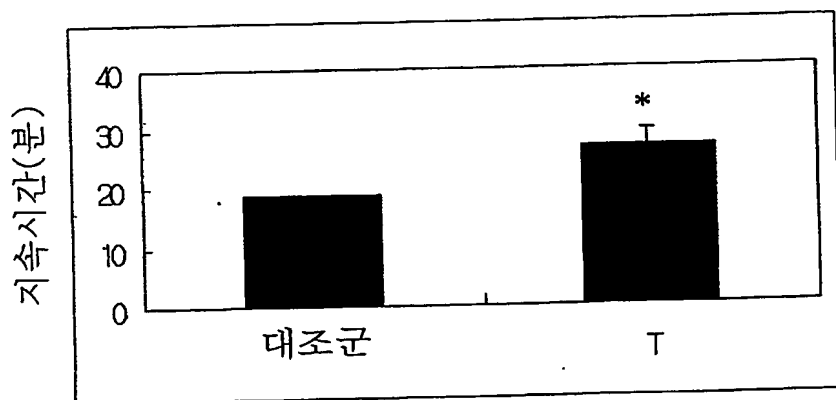
C.



D.



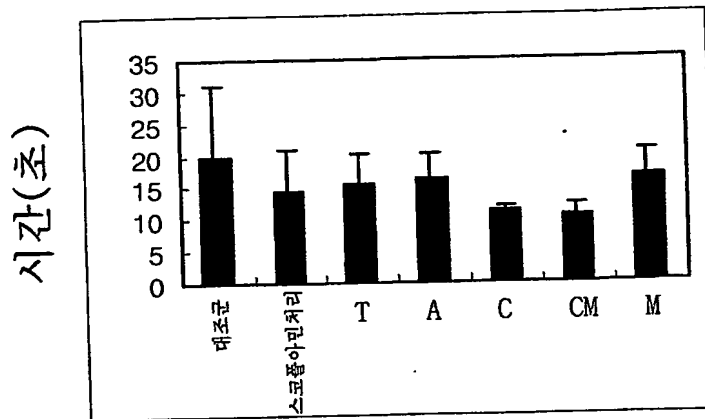
【도 3】

NaNO₂ 기억시험

【도 4】

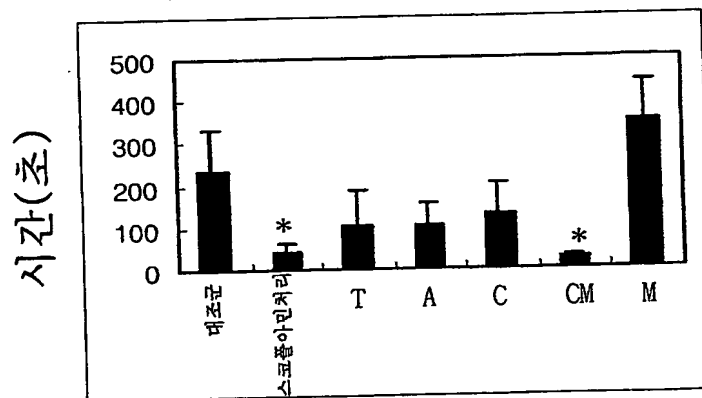
A.

트레이닝 실험



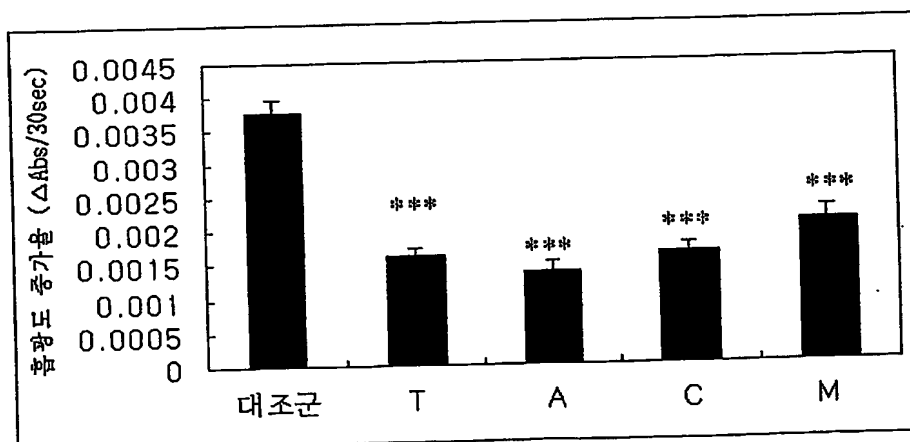
B.

테스트 실험



【도 5】

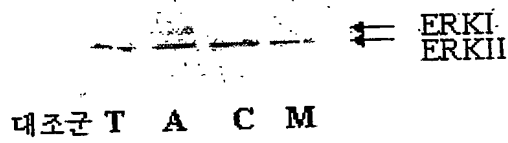
아세틸콜린 에스테라제 억제효과



【도 6】

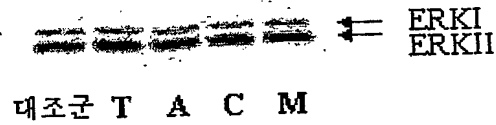
포스포 ERK

A.

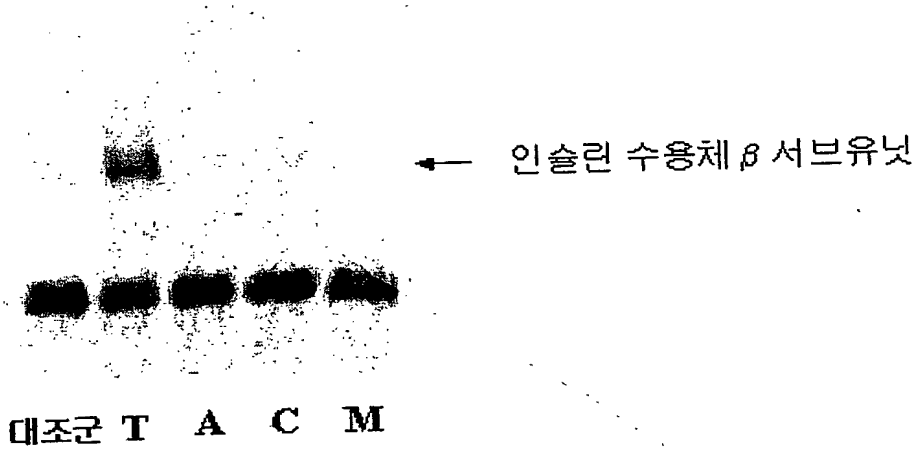


ERK

B.



【도 7】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.